

学校编码: 10384

分类密级

学号: 24520121153203

UDC

厦 门 大 学

硕士学位论文

老年痴呆疾病中神经元细胞周期调控机理
及动物模型研究

The neuronal cell cycle regulation mechanism and
related animal model in Alzheimer's disease

李小萍

指导教师姓名: 张杰教授

专 业 名 称 : 微生物学

论文提交日期: 2015 年 4 月

论文答辩时间: 2015 年 5 月

学位授予日期: 年月

2015 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(张杰)课题(组)的研究成果,获得(张杰)课题(组)经费或实验室的资助,在(张杰)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 李小萍

2015年5月18日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（）1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（）2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：李小萍

2015 年 5 月 18 日

摘要

阿尔茨海默病（Alzheimer's Disease, AD）是一种与年龄相关的神经退行性疾病，它的主要临床表现是记忆和认知功能的逐渐衰退。AD 是一种严重影响人类健康的神经退行性疾病，至今仍未找到有效的治疗方法。因此从预防和早期治疗角度考虑，对于 AD 早期病理变化的研究就十分重要。成熟神经元处于细胞周期静止期，而在 AD 中，大量神经元的细胞周期被重新激活，但这些神经元不会再分裂而是最终走向了凋亡，这是目前在 AD 小鼠模型中已知最早的细胞功能紊乱。但对细胞周期重新激活导致神经元凋亡的机制目前还不清楚。AD 中神经元细胞周期的重新激活所导致的神经元凋亡是神经退行性疾病发生的重要原因，但目前对于这一机制的研究还很缺乏，主要原因之一是没有一个能动态地反应神经元细胞周期的模型。基于此，我们引入了 FUCCI-Fluorescent Cell Cycle Indicator system。FUCCI 系统通过对细胞周期特异蛋白的标记可以动态地区分 S/G2/M 期和 G1 期的细胞。

本研究中，我们使用 FUCCI 小鼠和 AD 小鼠（APP/PS1）进行杂交得到 FUCCI/APP/PS1 小鼠。在此模型中我们可以动态研究 AD 致病过程中神经元细胞周期的变化过程。我们发现，A β 淀粉样斑的量随着小鼠年龄的增加而增加，而且 A β 淀粉样斑主要集中分布在小鼠大脑的海马区和皮层区；小鼠大脑中同时伴随着越来越多的神经细胞再次进入细胞周期。

本研究创新性地运用了最新的 FUCCI 细胞周期小鼠模型，通过和 AD 小鼠的杂交揭示了在 APP/PS1 小鼠大脑中 A β 淀粉样斑的聚集以及伴随的神经元细胞周期的重新激活。在该模型上的研究为进一步深入研究阿尔茨海默病中神经元细胞周期调控的分子机制提供了全新的模型和研究策略，并为基于细胞周期紊乱调控的药物开发提供了动物模型基础。

关键词：阿尔茨海默病；细胞周期；FUCCI；APP/PS1；Cdk3/Cyclin C

Abstract

As one major neurodegenerative disease, Alzheimer's Disease (AD) is characterized by the loss of memory and cognition function. AD has become one of the common diseases which affect human health seriously, but has not yet found effective clinical treatments. So in consideration of prevention and early treatment, it is important to identify the early pathological changes of AD. The mature neurons remain in quiescent stage. However, a large number of neurons is reactivated to reenter the cell cycle during the pathogenesis of AD, and those neurons will be destined to death rather than division. This is the earliest known cell dysfunction in AD mice model till now. But the mechanism underlying the neuronal cell cycle reactivation is still unclear in AD, and one of the main reasons is that there is no suitable animal models that can dynamically reflects neuronal cell cycle. Based on this, we introduced FUCCI (Fluorescent Cell Cycle Indicator) system to our study. FUCCI system can dynamically distinguish the cell of S/G2/M phase and G1 phase through the cell cycle specific proteins.

In the study, we crossed FUCCI mice with AD mice (APP/PS1) to get the FUCCI/APP/PS1 mice. In this model, we can dynamically monitor the neuronal cell cycle progression process during AD pathogenesis. We find that A β accumulation is increased with mouse age and A β mainly distributed in in FUCCI/APP/PS1 hippocampus and cortex. Furthermore, we also found that with the increasing of age, more and more neurons reentered cell cycle.

Our study creatively uses the FUCCI cell cycle mice model, and has revealed that the accumulation of A β amyloid plaques and the accompanying reactivation of neuronal cell cycle in APP/PS1 mice brain. The study on this model provides entirely a new model and research strategy for further in-depth study on the molecular mechanisms of neuronal cell cycle regulation of Alzheimer's disease. Pharmaceutically, also provides animal model foundation for drug development based on the regulation of neuronal cell cycle disorders.

Keyword: Alzheimer's Disease; cell cycle; FUCCI; APP/PS1; Cdk3/Cyclin C

目录

第一章前言	1
1.1 阿尔茨海默病.....	1
1.1.1 概述	1
1.1.2 阿尔茨海默病的主要病理特征	3
1.1.3 阿尔茨海默病的主要致病机制	5
1.1.4 阿尔茨海默病的临床特征	11
1.1.5 阿尔茨海默病的诊断	12
1.2 细胞周期调控与神经退行性疾病.....	13
1.2.1 细胞周期概述	13
1.2.2 AD 中神经元细胞周期的再激活.....	15
1.2.3 FUCCI	17
1.2.4 Cdk3/Cyclin C 与细胞周期	20
1.3 本论文的研究内容与意义.....	22
第二章实验材料与方法	24
2.1 实验材料.....	24
2.1.1 试剂、抗体、化学药品	24
2.1.2 主要仪器设备和耗材	24
2.1.3 细胞、动物及质粒	25
2.1.4 溶液配制	26
2.2 实验方法.....	27
2.2.1 质粒的提取	27
2.2.2 基因鉴定	28
2.2.3 神经元的培养	29
2.2.4 灌注、包埋和切片	29
2.2.5 免疫组化	30
2.2.6 胚胎电转	31
2.2.7 小鼠脑组织的免疫荧光	31
2.2.8 立体定位注射	32

第三章结果与分析	33
3.1 在 FUCCI/APP/PS1 和 FUCCI/WT 小鼠模型中 A β 淀粉样斑的聚集量和分布情况.....	33
3.2 FUCCI/APP/PS1 和 FUCCI/WT 小鼠模型的神经细胞的细胞周期进程 ...	34
3.3 FUCCI/APP/PS1 小鼠大脑中进入细胞周期的细胞类型	36
3.4 FUCCI/APP/PS1 和 FUCCI/WT 小鼠元代神经元细胞周期进程	37
3.5 A β 对神经元细胞周期的影响.....	38
3.6 Cdk3/cyclinC 对神经元细胞周期的影响.....	39
第四章讨论与展望	41
参考文献	43
致谢	58

Table of Contexts

Chapter1 Intriduction	1
1.1 Alzheimer's disease	1
1.1.1 Alzheimer's disease overview	1
1.1.2 Pathological characteristics of Alzheimer's disease	3
1.1.3 Pathogenic mechanism of Alzheimer's disease.	5
1.1.4 Clinical features of Alzheimer's disease.	11
1.1.5 Diagnosis of Alzheimer's disease	12
1.2 Cell cycle regulation and Alzheimer's disease	13
1.2.1 Cell cycle overview	13
1.2.2 Cell cycle reactivation in Alzheimer's disease neuron	15
1.2.3 FUCCI	17
1.2.4 Cdk3/Cyclin C and cell cycle	20
1.3 Contents and significance of This Thesis	22
Chapter 2 Materials and methods	24
2.1 Materials	24
2.2 Experimnetal method	27
Chapter 3 Results and analyses	33
3.1 The accumulation and distribute of Amyliod plaques in FUCCI/APP/PS1 and FUCCI/WT mouse model	33
3.2 The cell cycle progression of nerve cell in FUCCI/APP/PS1 and FUCCI/WT mouse model.	34
3.3 The cell type that reentry cell cycle in FUCCI/APP/PS1 mouse brain	36
3.4 The cell cycle progression of primary neurons in FUCCI/APP/PS1 and FUCCI/WT mouse	38
3.5 The influence of CDK3/Cyclin C on neuron cell cycle	39
Chapter 4 Discussion and prospect	41
References	43
Acknowledgments	58

第一章前言

1.1 阿尔茨海默病

1.1.1 概述

阿尔茨海默病（Alzheimer's Disease, AD），又称老年痴呆症，是1906年首先由德国的一位神经病理学家和精神病学家阿尔茨海默·阿勒斯所描述，并以他的名字命名的疾病。阿尔茨海默病是一种最常见的渐进性神经系统退行性疾病，多发于老年人。其主要病理特征包括大脑皮层和海马神经元外出现 β 淀粉样蛋白（A β ）聚集形成的老年斑（senile plaques, SP）和神经元内tau蛋白因过度磷酸化而聚集形成神经纤维缠结（neurofibrillary tangles, NFTs）以及脑皮层和海马区神经元的大量丢失^[1,2]。它的临床表现主要为认知和记忆功能的不断退化、日常生活能力出现渐进性的减退和行为障碍^[3]。

研究表明，患有阿尔茨海默病的人群中只有一小部分（<10%）是由于罕见的常染色体显性基因突变导致的，并表现为早发性（40-60岁）。这些家族型阿尔茨海默病（Familial Alzheimer's Disease, FAD）大部分都是由于编码淀粉样前体蛋白（APP）和早老素（PS1、PS2）的基因发生突变，这两种基因都与A β 的代谢相关^[4]。而散发型阿尔茨海默病更常见，它的病因尚不清楚，很可能是随着年龄的增加基因和环境共同作用的结果^[5,6]。

阿尔茨海默病是人类的第六大杀手，也是唯一的一个在过去十年死亡率增加了66%的疾病^[7]。据估计，全世界约有2400万人患有痴呆，其中大部分人被认为是阿尔茨海默病患者。随着社会老龄化进程的加快，预计这些数字到2050年有可能翻两番，这也就意味着未来将有更多人遭受阿尔茨海默病的折磨^[8]。不仅如此，对AD患者的治疗和照顾也会给国家和社会带来巨大的负担。

从基因的角度来看，不管是家族型阿尔茨海默病还是散发型阿尔茨海默病都属于多基因控制的疾病。家族型阿尔茨海默病是一种常染色体显性基因控制的遗传病，它的发病时间一般都在60岁以下^[9]。第一个被鉴定出来的引起家族型阿尔茨海默病的突变是位于21号染色体上的编码淀粉样前体蛋白（APP）的基因，但是这种突变只能解释一小部分家族型阿尔茨海默病。而与APP高度同

源的早老素1 (presenilin 1, PSEN1) 和早老素2 (presenilin 2, PSEN2) 导致的阿尔茨海默病所占比例更大。事实上, 家族型阿尔茨海默病是十分罕见的, 它在人群中的发病率不足0.1%^[10, 11]。在电子显微镜下观察, 在阿尔茨海默病的病灶区, 主要可以观察到细胞的衰老、神经斑和神经纤维缠结。对于阿尔茨海默病的发病机制已有一些假说, 包括随着A β 的聚集和沉淀导致的淀粉样斑的发生、tau的过度磷酸化导致的神经纤维的缠结、神经血管的功能障碍、神经元再次进入细胞周期以及线粒体功能障碍等^[12]。在阿尔茨海默病的致病机制中最主要的是淀粉样级联假说。淀粉样斑的数量与痴呆的严重程度之间的相关性使得人们把更多的目光投放在淀粉样斑与该疾病的病理变化的关系上^[13]。支持该假说的证据包括, 在家族型阿尔茨海默病中存在产生A β 的底物 (APP) 和关键酶 (presenilin) 的基因。该假说认为, 大脑中A β 的产生和清除的失衡是诱导原因, 最终导致神经元的退行和痴呆。不管是APP的突变还是presenilin的突变都可以增加A β 42的产生。最初, 老年斑中出现的A β 被认为是异常的蛋白, 但是后来发现在正常的细胞代谢中A β 也会产生。A β 的产生主要是由 β -分泌酶和 γ -分泌酶切割淀粉样前体蛋白 (APP) 产生的。 γ -分泌酶是一种膜内的蛋白酶复合物, 由四种成分组成, 即presenilin, nicastrin, PEN-2, A ϕ H-1, 其中presenilin是它的活性区域。大部分 β -分泌酶的活性来源于一个完整的膜蛋白天冬氨酸蛋白酶, β -分泌酶也叫做APP的 β 位点切割酶1 (β -site APP-cleaving enzyme1, BACE1)^[14]。在非淀粉样蛋白途径中, 由属于解离素ADAM家族的 α -分泌酶和金属蛋白酶发挥作用。在正常情况下, 大脑内的A β 通过肽酶降解酶、神经内肽酶、内皮素转换酶进行降解。可溶性的A β 是通过构象改变形成高 β 折叠成分, 使它更易于聚集成可溶性的寡聚体和大的不可溶的纤丝。在这个过程中, 纤丝化的A β 可以引起其它类型的A β 发生错误折叠。最初认为, 只有聚集在淀粉样斑处的A β 具有神经毒性。但是结果表明, 可溶性的A β 低聚物可能通过抑制海马的长时程增强效应和干扰突触可塑性而发挥作用。由12个A β 肽段聚集成的A β 低聚物与转基因AD小鼠内记忆的紊乱相关^[15, 16]。与此同时, 研究发现神经纤维缠结是由异常过度磷酸化的tau蛋白组成。Tau是一种正常的轴突蛋白, 它可以通过它的微管结合域与微管结合, 从而促进微管的组装和稳定。Tau的磷酸化由多种蛋白激酶 (例如, GSK-3 β 和CDK5) 和磷酸酶共同调节。在阿尔茨海默病中, Tau的过度

磷酸化发生于细胞内，导致正常的Tau蛋白不能与其它的微管结合蛋白结合，从而引起微管组装的紊乱，并损伤轴突的运输，危害神经元和突触的功能。在神经纤维缠结中，Tau也变得更易于聚集成不可溶的纤丝。在疾病的发生过程中，Tau的病理状态最早发生于神经元内，并慢慢发展到海马和杏仁核区，最终到达神经皮层相关区域^[17]。然而，对于Tau的过度磷酸化和缠结的形成是阿尔茨海默病发生的结果还是原因，目前并不清楚。有研究发现，脑血管病和阿尔茨海默病具有共病现象。神经血管假说认为，失去功能的血管可能会由于运往神经元的营养物质的运输受损或者大脑中A β 清除的减少而引发认知功能障碍。这种脑血管的改变可能是由于血管分化基因MEOX2的下调引起的，最终导致大脑微血管的丢失和大脑血管流以及A β 流出大脑的量的减少^[18]。另外，血管内皮生长因子基因的多态性可能与散发型阿尔茨海默病相关。局部缺血导致的脑血管疾病可以引起APP表达的上调以及随之产生的A β 的聚集的增加^[19,20]。

目前还没有找到能治愈阿尔茨海默病的药物，这使得它成为目前世界上最紧迫的公共卫生问题之一。因此，对阿尔茨海默病的致病机制进行深入研究，从而找到有效的预防和治疗措施控制该病的发生显得尤为重要。

1.1.2 阿尔茨海默病的主要病理特征

早在100多年前，阿尔茨海默首次对死于痴呆症的病人的大脑进行医学解剖时，就发现该患者大脑组织中存在大量神经纤维的缠结和淀粉样斑，这一病理学特征直到今天仍然被认为是AD的主要病理学特征^[21]。神经元内神经纤维缠结是由过度磷酸化的tau蛋白组成，而神经元外的淀粉样斑主要是由38-43个氨基酸组成的 β 淀粉样蛋白（A β ）聚集形成^[3,22]。

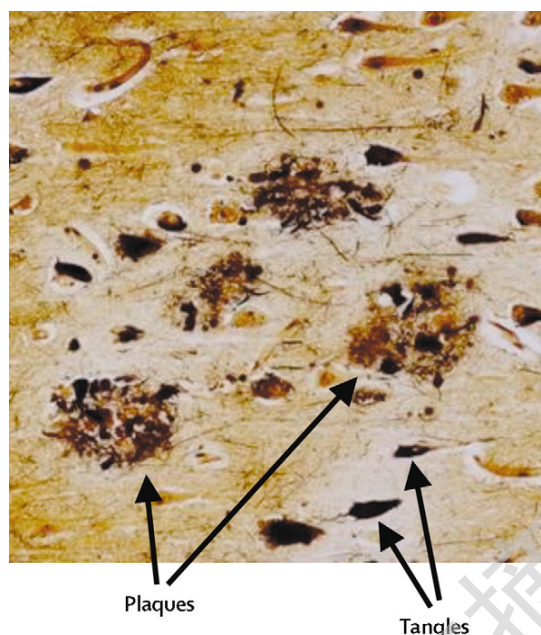


图 1.1 阿尔茨海默病患者大脑皮层中的老年斑和神经纤维缠结

Figure 1.1 Plaques and tangles in the cerebral cortex in Alzheimer's disease

图片来源: Alzheimer's disease from Kaj Blennow, Mony J de Leon, Henrik Zetterberg

1.1.2.1 淀粉样斑

A β 被认为是诱发阿尔茨海默病的主要原因。A β 是由 β 分泌酶和 γ 分泌酶按顺序切割淀粉样前体蛋白 (APP) 而产生的^[23]。随后, A β 被分泌到细胞外, A β 可以呈现多种构象, 从单体到可溶性寡聚体、原纤维、小纤维, 最终聚集形成淀粉样斑。

APP的加工是以一种组成型分泌途径进行的。通过翻译后N-和O-末端糖基化、磷酸化以及酪氨酸的硫酸化对其进行再修饰加工。全长的APP通过至少三种蛋白酶对其进行依次加工, 这三种酶即 α -、 β -、 γ -分泌酶^[27]。 α -分泌酶和 β -分泌酶在细胞腔和细胞外结构域进行切割产生一个大的可溶性APP衍生物 (即APPs α 和APPs β) 和与膜相连的 α -或 β -羧基端片段 (即APP-CTF α 和APP-CTF β) 然后APP-CTF再被 γ 分泌酶依次切割产生一个大约3kDa的产物 (p3, 源于APP-CTF α) 或者A β (源于APP-CTF β) 以及一个APP胞内结构域 (AICD)。大多数神经元 β -分泌酶属于跨膜天冬氨酸蛋白酶, 也叫BACE1。在A β 肽段的+11的位置的Glu后面有一个 β -分泌酶的切割位点。BACE1切割APP可以产生A β 的N-末端。值得注意的是, 组织蛋白酶B被认为也具有A β 分泌酶的活性, 但是大脑内

A β 的产生是否与BACE1和组织蛋白酶B的相互作用有关并不清楚^[28]。

1.1.2.2 神经纤维缠结

研究发现,神经纤维缠结是由过度磷酸化的Tau蛋白组成。Tau是一种正常的轴突蛋白,通过它的微管结合区域与微管结合从而促进微管的组装和稳定。Tau的磷酸化是通过多种激酶和磷酸酶之间的平衡来调节的。AD患者大脑神经元内Tau的过度磷酸化使得它没有办法与微管蛋白结合,进而引起微管的解聚,并且损伤轴突的运输和突触的功能。同时,Tau也更易于聚集形成不可溶解的纤维,进一步损伤神经元的功能^[29]。Tau是一种可溶性蛋白,但是在神经纤维缠结形成过程中会形成不可溶的聚集体,从而干扰神经元的结构和功能。

1.1.3 阿尔茨海默病的主要致病机制

阿尔茨海默病的病因和致病机制复杂,目前普遍认为遗传和环境因素是导致AD发生的重要因素。阿尔茨海默病代表的是一种重要的公众健康问题,尽管已经有很多治疗方法可以减缓阿尔茨海默病的症状,但是仍然急切需要我们提高对它的致病机制的理解,从而找到彻底治疗该病的方法^[30]。目前,科学界主要存在四种假说,即淀粉样蛋白级联假说、神经元细胞骨架变性假说、氧自由基损伤假说、ApoE E等风险因子损伤假说。

1.1.3.1 淀粉样蛋白级联假说

淀粉样级联假说认为 β 淀粉样斑(A β)的沉积可以引发脑内神经功能障碍和神经元的凋亡。随着对阿尔茨海默病病理变化认识的增加,越来越多的研究集中在A β 的加工上,例如,淀粉样前体蛋白(APP)剪切成A β (A β ₁₋₄₀ and A β ₁₋₄₂)肽段的过程,以及A β 寡聚体(2-12个肽段的聚合物)的重要性。A β ₁₋₄₂肽段比A β ₁₋₄₀肽段更容易聚集,这两种形式的比率受APP被 α 、 β 和 γ 分泌酶切割模式的影响^[31]。并且,A β 的小寡聚体比成熟的纤维毒性更大。

APP的基因位于人类第21号染色体上,不同的切割方式主要产生APP695、APP751和APP770(分别包含695、751和770个氨基酸)三种不同的亚型。APP751和APP770在大多数组织中表达,APP695主要在神经元中表达。全长的APP是一个I型跨膜蛋白,它在内质网(endoplasmic reticulum, ER)中合成,然后通过高尔基体(Golgi)转运到转高尔基体网络(trans-Golgi-network, TGN)中。

A β 结构域是APP蛋白的一个独特结构，A β 在内质网和Golgi/TGN中产生的，APP从TGN转运到细胞表面并被 α 分泌酶切割产生可溶性sAPP α 或者通过内质网溶酶体降解途径内化。虽然A β 是具有神经毒性的，但是，sAPP α 具有神经保护作用，因而APP的亚细胞分布是神经退行性的一个重要指标。所以，弄清楚APP相关运输机制对于理解AD的发病机理至关重要^[33]。

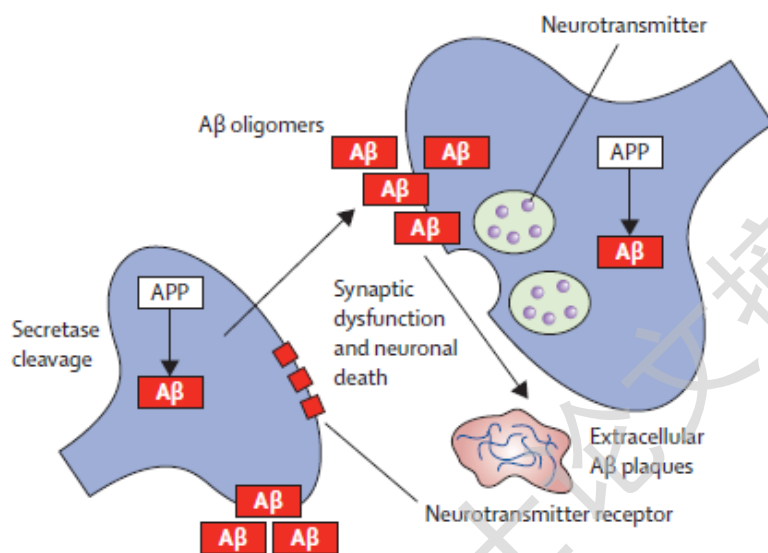


图1.2 淀粉样级联假说

Figure 1.2 Amyloid cascade hypothesis

图片来源: Alzheimer's disease from Clive Ballard, Serge Gauthier, Anne Corbett, Carol Brayne, Dag Aarsland, Emma Jones

α -分泌酶

α -分泌酶切割APP可以阻止A β 的产生，因为 α -分泌酶的切割位点位于A β 结构域内。APP经过 α -分泌酶的切割产生一个大的APP的可溶性胞外域，称为sAPP α 。早期的研究表明， α -分泌酶是一种膜结合的内切蛋白酶，主要在细胞膜上切割APP。 α -分泌酶属于一种锌金属蛋白酶，一些ADAM家族的成员具有 α -分泌酶相关的酶活性，其中被认为是 α -分泌酶的三个分别是：ADAM9、ADAM10、ADAM17，这三种蛋白酶也是I型跨膜蛋白。ADAM17（也称为tumor necrosis factor- α converting enzyme, TACE）可以被切割并释放它的细胞外结构，控制ADAM17的量可以改变APP的 α 切割和A β 的产生。在ADAM17敲除的细胞中APP的 α 切割也随之减少，表明ADAM17很可能就是调节APP α 切割的 α -分泌酶。将ADAM9与APP共表达可以促进sAPP α 的产生，表明ADAM9具有 α -分泌酶活性^[34]。

与A β 相反, sAPP α 在调节神经元的可塑性和存活能力方面具有重要作用, 同时具有神经保护作用。sAPP α 也可以调节神经干细胞的增值, 并对早期中枢神经系统的发育具有重要作用^[35]。

β -分泌酶

A β 产生的第一步就是 β -分泌酶对APP的切割。BACE1是主要的 β -分泌酶, 它是一种在C-端附近有I型跨膜结构域的膜结合的天冬氨酸蛋白酶^[36]。BACE1在酸性环境中具有最好的活性。BACE2与BACE1具有同源性, 在唐氏综合症(Down's syndrome, DS)中发挥重要作用。BACE2同样可以切割 β -分泌酶的底物, 但是, 在神经元中BACE2的表达量明显比BACE1低, 而且神经元中比起切割 β -分泌酶的切割位点, BACE2更倾向于切割 α -分泌酶的切割位点。BACE1是主要的 β 分泌酶, 但也不排除BACE2在AD致病过程中的作用。除了BACE1和BACE2以外, 组织蛋白酶B (cathepsin B) 也是一种 β -分泌酶。在 β -分泌酶的切割下, APP的胞外结构域以可溶性APP β (sAPP β) 的形式被释放。虽然, sAPP β 与sAPP α 相比只少了A β 段的C端1-16的序列, sAPP β 具有调节轴突的剪切和神经元的凋亡的作用^[37]。

在 α -和 β -切割之后, APP的C端的片段(the carboxyl terminal fragments, CTFs), 分别称作 α CTF和 β CTF, 仍然与细胞膜结合, 并且可以进一步被 γ -分泌酶切割^[38]。APP β CTF具有细胞毒性, 可以通过干扰APP的信号转导从而引起神经元的退化。

γ -分泌酶

APP α CTF和 β CTF进一步被 γ -分泌酶切割, 分别产生p3和A β 。P3片段很快被降解, 通常认为它并不具有重要功能。尽管胞外序列不同, γ -分泌酶介导的切割特异的发生在跨膜区域。APP经过 γ -分泌酶的切割主要产生A β 40和更具淀粉样蛋白形式的A β 42, 同时释放APP的胞外结构域(AICD)。 γ -分泌酶的活性依赖于至少由四种组成的高分子量复合物, 这其中包括早老素(presenilin, PS, PS1 or PS2)。 γ -分泌酶复合物的分布在异常的A β 的产生和AD的致病中扮演重要角色^[39]。

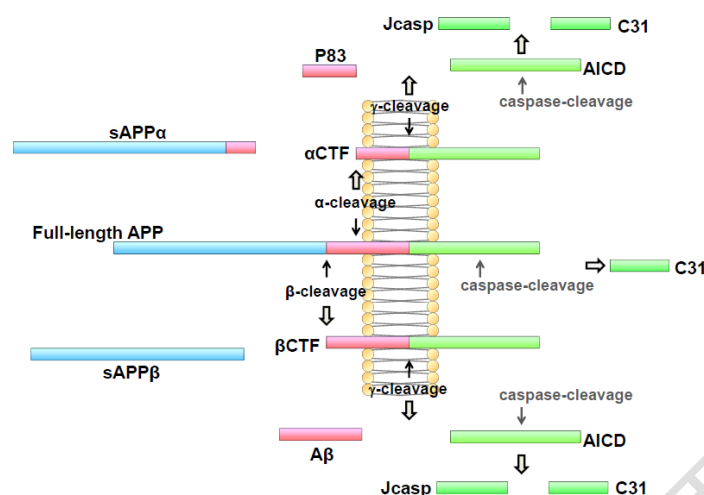


图 1.3 APP 加工过程的示意图

Figure 1.3 Schematic diagram of APP processing (not drawn in proportion)

图片来源：APP processing in Alzheimer's disease from Yun-wu Zhang^{1*}, Robert Thompson², Han Zhang^{1,2}, Huaxi Xu^{1,2*}

Aβ的作用

Aβ的过量产生将导致突触功能的丧失，神经元内部神经纤维缠结的形成，并最终导致大脑该区域神经元的丢失^[43]。Aβ有两个主要的毒性形式，即Aβ₄₀和Aβ₄₂。相对于Aβ₄₀而言，Aβ₄₂的疏水性更强，而且更易于形成纤维。在家族型AD（Familial AD, FAD）中Aβ₄₂与Aβ₄₀的比例明显升高，表明Aβ₄₂相对于Aβ₄₀的升高对于AD的发生至关重要，Aβ₄₂可能是通过为Aβ的寡聚体、纤丝提供一个组装的核心。尽管大部分Aβ都分泌到细胞外，Aβ可以在细胞内的几种亚细胞结构中产生，例如ER、Golgi/TGN和内体/溶酶体。此外，细胞外的Aβ可以通过内化途径进行降解。细胞内Aβ的存在表明Aβ可能在神经元内聚集从而导致疾病的发生。细胞内的Aβ存在于海马和皮层，而早期的AD也正是发生于此。细胞内Aβ的聚集可以加速细胞外淀粉样斑的形成。细胞内Aβ的聚集作为神经疾病的早期事件，而且随着细胞外Aβ的增加细胞内Aβ随之减少。细胞内Aβ也可以通过影响ERK/MAPK信号通路来损伤杏仁核相关的情感反应。发动蛋白介导而非网格蛋白介导的Aβ内化的抑制也可以降低Aβ诱导的神经毒性^[44]。内化的Aβ可以在细胞内聚集，扰乱膜结构，从而导致病理状态的发生。

最初认为，Aβ是一种仅存在于衰老的或痴呆的人类大脑中的一种异常而有毒性的物质，但是后来的实验推翻了这一理论。尽管，过量的Aβ可以引起突触

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.